

HỆ PHÂN TÁN RẮN NANO CỦA THUỐC KHÓ TAN

Trần Trương Đình Thảo, Trần Hà Liên Phương, Trần Nghĩa Khánh, Võ Văn Tới
Đại học Quốc tế - Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

Tóm tắt

Mục tiêu: Nghiên cứu bào chế hệ phân tán rắn nano nhằm làm tăng sinh khả dụng của thuốc khó tan-ứng dụng cho thuốc điều trị loãng xương và nghiên cứu giải thích cơ chế làm tăng tốc độ hoà tan của hệ phân tán rắn (HPTR) này. **Phương pháp nghiên cứu:** Phương pháp nóng chảy được dùng để bào chế HPTR. Tốc độ giải phóng của hoạt chất được khảo sát trong môi trường thử pH 1,2 và pH 6,8. Cấu trúc tinh thể của thuốc được khảo sát bằng phương pháp nhiệt vi sai (differential scanning calorimetric) và nhiễu xạ bột tia X (powder X-ray diffraction). Bên cạnh đó, phương pháp phân tích kích thước hạt nano và đo góc tiếp xúc của HPTR cũng được dùng để giải thích cơ chế làm tăng tốc độ hòa tan của hoạt chất. **Kết quả:** Trong môi trường pH 1,2 và pH 6,8, tốc độ giải phóng hoạt chất từ HPTR gia tăng đáng kể khi so sánh với tốc độ giải phóng của hoạt chất ban đầu. Phương pháp bào chế đã làm thay đổi cấu trúc tinh thể của hoạt chất một phần chuyển sang dạng vô định hình và làm cho tính chất của thuốc trở nên thấm ướt hơn. Kích thước hạt của hoạt chất giảm xuống kích thước nano khi HPTR được phân tán trong môi trường thử. **Kết luận:** Nghiên cứu này đã thành công trong việc bào chế ra HPTR nano bằng phương pháp nóng chảy nhằm làm tăng sinh khả dụng của thuốc khó tan thông qua cơ chế thay đổi cấu trúc tinh thể, giảm kích thước hạt và tăng tính thấm ướt của hoạt chất.

Từ khóa: hệ phân tán rắn, thuốc khó tan trong nước, tốc độ hòa tan.

Abstract

NANO-SIZED SOLID DISPERSION OF A POORLY WATER-SOLUBLE DRUG

Tran Truong Dinh Thao, Tran Ha Lien Phuong, Tran Nghia Khanh, Vo Van Toi
International University – Vietnam National Universities, Ho Chi Minh City

Purposes: Aims of this study are dissolution enhancement of a poorly water-soluble drug by nano-sized solid dispersion and investigation of mechanism of drug release from the solid dispersion. A drug for osteoporosis treatment was used as the model drug in the study. **Methods:** melting method was used to prepare the solid dispersion. Drug dissolution rate was investigated at pH 1.2 and pH 6.8. Drug crystallinity was studied using differential scanning calorimetric and powder X-ray diffraction. In addition, droplet size and contact angle of drug were determined to elucidate mechanism of drug release. **Results:** Drug dissolution from the solid dispersion was significantly increased at pH 1.2 and pH 6.8 as compared to pure drug. Drug crystallinity was changed to partially amorphous. Also dissolution enhancement of drug was due to the improved wettability. The droplet size of drug was in the scale of nano-size when solid dispersion was dispersed in dissolution media. **Conclusions:** nano-sized solid dispersion in this research was a successful preparation to enhance bioavailability of a poorly water-soluble drug by mechanisms of crystal changes, particle size reduction and increase of wet property.

Keywords: solid dispersion; poorly water-soluble drug; dissolution.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong vài thập niên gần đây, các dược chất mới có nhiều triển vọng trong điều trị các bệnh gây ảnh hưởng lớn đến sức khỏe con người được nghiên cứu tổng hợp ngày càng nhiều. Tuy nhiên, đa số các chất này gặp phải vấn đề độ tan thấp. Đây là 1 yếu tố gây khó khăn cho việc phát triển công thức phóng thích thuốc có kiểm soát vì nếu độ tan của dược chất thấp sẽ làm cho thuốc khó phóng thích dẫn đến sinh khả dụng thấp hoặc quá trình phóng thích thuốc quá kéo dài, gây ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị.

Thông thường, các thuốc khó tan bị giới hạn bởi tốc độ hòa tan vì cấu trúc tinh thể của chúng [1]. Dạng bào chế HPTR là một xu hướng nghiên cứu mới phổ biến trên thế giới gần đây nhằm giải quyết vấn đề tăng độ tan của các dược chất khó tan bằng cách thay đổi cấu trúc tinh thể của các thuốc này sang dạng vô định hình [2-6]. Một HPTR thường bao gồm dược chất khó tan và một chất mang thân nước. Trong một vài trường hợp cần thiết, các chất diện hoạt hoặc các chất có khả năng làm tăng độ hoà tan của dược chất có thể được thêm vào công thức nhằm mục đích gia tăng độ tan của dược chất. Hai phương pháp bào chế chính của HPTR là phương pháp dung môi (solvent method) và phương pháp nóng chảy (melting method) [7]. Trong nghiên cứu này HPTR nano được bào chế bằng phương pháp nóng chảy và áp dụng làm tăng tốc độ hòa tan cho một thuốc điều trị loãng xương mới (LX). Qua đó làm tăng sinh khả dụng, hiệu quả điều trị của thuốc này. Ngoài ra, cơ chế giải phóng hoạt chất cũng được nghiên cứu để giải thích cho việc thuốc phóng thích nhanh hơn trong HPTR so với nguyên liệu ban đầu chưa được bào chế.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Nguyên liệu: Hydroxypropyl methyl cellulose 6 cps (HPMC) được mua từ Công ty Shin-Etsu Chemical (Nhật Bản). Polyethylene glycol 6000 (PEG) được mua

từ Công ty Sanyo (Nhật Bản). Poloxamer 407 (POX) được mua từ Công ty BASF (Đức). Brij® 98 được mua từ Công ty Sigma-Aldrich (Mỹ). Gelucire® 44/14 (GUC) và Cremophor® RH40 (CRH) được mua từ Công ty Gattefossé (Pháp). Tween® 80 được mua từ Công ty Shinyo Pure Chemicals (Nhật Bản).

2.2 Phương pháp

2.2.1. Điều kiện sắc ký lỏng hiệu năng cao

Nồng độ LX được xác định bằng hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao (Water, Mỹ) với cột phân tích Luna 5µ C18 (150x4,6 mm). Đầu dò UV được thiết lập ở bước sóng 254 nm. Pha động bao gồm acetonitrile và nước (tỉ lệ 1:1) được điều chỉnh với tốc độ 1ml/phút. Toàn bộ dung môi được lọc qua màng lọc 0,45 µM (Millipore Corp., Bedford) và loại bọt khí trước khi sử dụng. Trong mỗi đợt bơm mẫu, 20 µL mẫu cần phân tích được tiêm vào hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao.

2.2.2. Phương pháp thử độ tan

Một lượng dư thuốc LX được đựng trong ống tuýp chứa 1 ml các môi trường khác nhau như nước cất, pH 1,2, pH 6,8 và hỗn hợp tá dược trong nước (5% tá dược). Hỗn hợp thuốc và môi trường được trộn đều bằng máy lắc tuýp (vortexer) và các tuýp này được đặt trong bể lắc có điều nhiệt tại 37°C, tốc độ lắc 100 rpm trong 24 giờ. Các mẫu trong tuýp sau đó được lọc qua màng lọc 0,45 µM và pha loãng để xác định nồng độ thuốc bằng phương pháp HPLC.

2.2.3. Bào chế HPTR

HPTR được bào chế bằng phương pháp nóng chảy. Trước tiên, PEG và Brij® 98 được đun nóng chảy tại 100°C. Thuốc được phân tán trong hỗn hợp polyme nóng chảy và được khuấy trong 10 phút cho thuốc hoàn toàn tan chảy trong polyme. HPMC tiếp tục được phân tán trong hỗn hợp nói trên và khuấy cho đến khi HPMC hoàn toàn trương phồng. Toàn bộ hỗn hợp nóng chảy này được đông lạnh ở nhiệt độ - 27°C trong 1 giờ. Mẫu này sau đó được nghiền và rây qua rây 250 µm. Tỉ lệ các tá

được được thiết lập với tỉ lệ thuốc: PEG: Brij® 98: HPMC = 1: 2: 0,3: 1.

2.2.4. Phương pháp thử tốc độ giải phóng hoạt chất

Cân một lượng HPTR tương đương 100 mg thuốc LX và cho vào môi trường thử tốc độ hòa tan. Máy thử độ hòa tan DST-810 (Labfine, Seoul, Hàn Quốc) được dùng để xác định tốc độ phóng thích của hoạt chất trong 900 ml môi trường pH 1,2, pH 6,8 tại 37 °C dùng cánh khuấy ở tốc độ quay 50 vòng/phút. Tại các thời điểm 10, 20, 30, 45 và 60 phút, 1 ml mẫu được rút ra và thay thế bằng một lượng dung dịch môi trường tương ứng. Mẫu rút ra được dùng để xác định tốc độ phóng thích của hoạt chất bằng phương pháp sắc ký lỏng HPLC.

2.2.5. Phương pháp phân tích nhiệt vi sai

Nguyên liệu thô của thuốc LX (chưa qua quá trình bào chế bằng HPTR), PEG, và HPTR đã bào chế được phân tích với máy đo nhiệt vi sai (TA Instruments, Model 2910, Mỹ). Một lượng nhỏ mẫu (0,2-0,5 mg) được cân trong xoong nhôm (aluminum pan). Đồng thời, một xoong nhôm trống được dùng làm mẫu đối chiếu. Khí làm sạch được dùng là khí nitơ. Các mẫu được đun nóng từ 20 đến 200°C với tốc độ đun nóng 10°C/phút.

2.2.6. Phương pháp nhiễu xạ bột tia X

Các mẫu đã được dùng phân tích với phương pháp phân tích nhiệt vi sai cũng được phân tích bằng phương pháp nhiễu xạ bột tia X để xác định cấu trúc tinh thể của thuốc. Các mẫu được quét trong các bước 0,02° trong khoảng từ 5° đến 60° (góc nhiễu xạ 2θ) với tốc độ 1 giây/bước với máy nhiễu xạ D5005 diffractometer (Bruker, Đức).

2.2.7. Đo góc tiếp xúc

Nguyên liệu thuốc thô và HPTR đã bào chế được đo góc tiếp xúc và so sánh. Các mẫu được hòa tan trong cồn và diclomethane (tỉ lệ 1:1) với 5% nồng độ thuốc trong dung môi. Sau đó dung dịch này được bao trên tấm bán dẫn silic với tốc độ 3000 vòng/phút trong 30 giây với máy quay Head-Way PM101DT-R485 (Shinu M.S.T Co., Ltd) và được làm khô trong không

khí để hình thành lớp phim mỏng. Trong mỗi thí nghiệm, một giọt nước cất được đặt trên bề mặt của lớp phim mỏng tại nhiệt độ phòng. Góc tiếp xúc được đo bằng kỹ thuật giọt không cuốn (sessile drop technique) bằng máy đo DSA 100 (KRUS GmbH, Đức).

2.2.8. Xác định kích thước hạt

Để xác định kích thước các hạt nano khi được phân tán trong môi trường thử, bột HPTR được phân tán trong dung dịch pH 1,2 và pH 6,8 với nồng độ 15 mg thuốc/ml. Sau đó mẫu được đo với máy Electrophoretic Light Scattering 8000 (Photal Otsuka Electronics, Nhật Bản). Bên cạnh đó, mẫu cũng được chụp ảnh TEM (Transmission electron microscopy) với máy LEO 912AB-100 (Carl Zeiss, Đức).

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

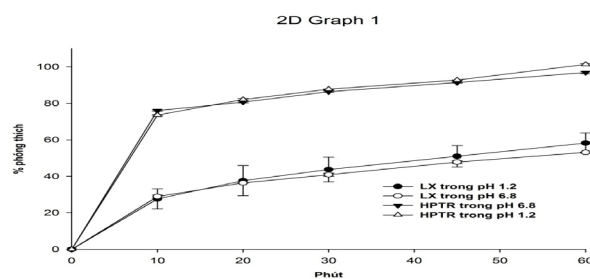
3.1. Độ tan và tốc độ giải phóng hoạt chất

Độ tan của thuốc được thử trong các môi trường và dung dịch 5 % của các tá dược được trình bày trong bảng 1. Kết quả cho thấy đây là thuốc kém tan trong nước, với độ tan khoảng 1 mg/ml trong nước cất, pH 1,2, pH 6,8. Tuy nhiên việc kết hợp các tá dược với tỉ lệ 5% chất nhũ hóa trong nước cho thấy khả năng tăng được độ tan của thuốc. Đặc biệt trong các tá dược được thử nghiệm làm tăng độ tan của thuốc, Brij® 98 cho thấy đây là chất làm tăng độ tan tốt nhất cho thuốc. Do đó, chất nhũ hóa này tiếp tục được dùng để phối hợp trong công thức bào chế HPTR.

Bảng 1. Độ tan của LX trong các môi trường và dung dịch 5% tá dược.

Môi trường	Độ tan (µg/mL)
Nước cất	1061,35 ± 17,36
pH 1,2	947,23 ± 13,41
pH 6,8	923,42 ± 33,87
POX	1490,80 ± 71,29
GUC	2250,16 ± 135,01
CRH	2537,14 ± 117,87
Brij® 98	3463,09 ± 99,27
Tween® 80	2721,69 ± 92,85

Kết quả thử tốc độ hòa tan cho thấy tốc độ hòa tan của thuốc trong HPTR tăng một cách đáng kể (hình 1). Cụ thể, đối với thuốc chưa qua bào chế bằng phương pháp HPTR thì phần trăm thuốc được phóng thích chỉ đạt khoảng 50% sau 1 giờ trong các môi trường thử pH 1,2 và pH 6,8. Trong khi đó, phần trăm thuốc phóng thích từ HPTR đạt được 100% sau 1 giờ trong các môi trường thử. Vì vậy, kết quả thử nghiệm cho thấy HPTR bao gồm PEG và HPMC thực hiện bằng phương pháp nóng chảy là phương pháp hiệu quả để nâng cao tốc độ hòa tan của LX, qua đó nâng cao sinh khả dụng của thuốc này.



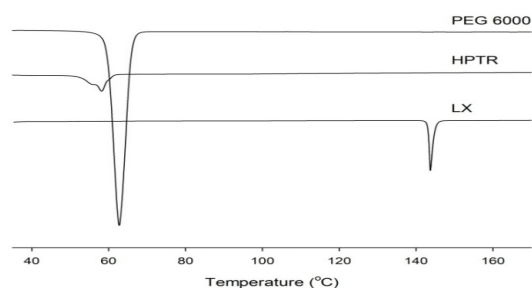
Hình 1. Tốc độ hòa tan của nguyên liệu thuốc (LX) và hệ phân tán rắn của LX (HPTR) trong các môi trường thử pH 1,2 và pH 6,8.

3.2. Khảo sát cấu trúc tinh thể của thuốc

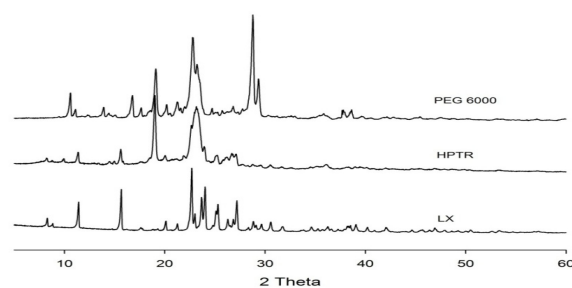
Phương pháp phân tích nhiệt vi sai cho thấy LX có cấu trúc tinh thể tự nhiên với điểm nóng chảy ở 143°C (hình 2). Tương tự, PEG cũng có điểm nóng chảy ở 63°C. Khi được kết hợp trong HPTR, điểm nóng chảy của PEG vẫn xuất hiện nhưng nhỏ hơn một chút so với PEG nguyên liệu thô do sự tương tác với các thành phần khác trong HPTR. Ngược lại, điểm nóng chảy của LX trong HPTR đã không còn tồn tại. Điều này chứng tỏ phần nào cấu trúc tinh thể của LX đã được chuyển sang dạng vô định hình.

Tương tự cấu trúc tinh thể của LX được khảo sát bằng phương pháp nhiễu xạ bột tia X (hình 3). Kết quả cho thấy LX có cấu trúc tinh thể với nhiều đỉnh (peak) đặc trưng. Tuy nhiên cường độ các đỉnh này bị giảm hoặc biến mất khi thuốc được bào chế bằng HPTR. Điều này

khẳng định một lần nữa một phần cấu trúc tinh thể của thuốc đã được chuyển sang dạng vô định hình và đây chính là yếu tố giúp làm tăng tốc độ hòa tan của thuốc.



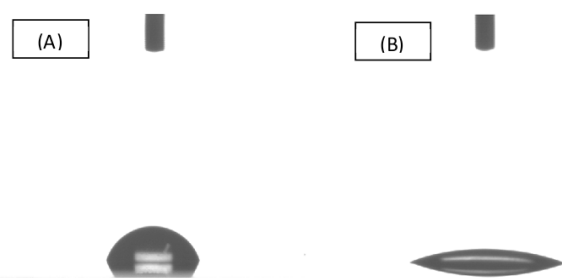
Hình 2. Phân tích nhiệt vi sai của thuốc, PEG và hệ phân tán rắn.



Hình 3. Phân tích nhiễu xạ bột tia X của thuốc, PEG và hệ phân tán rắn.

3.3. Góc tiếp xúc của nguyên liệu thuốc và thuốc trong HPTR

Góc tiếp xúc của nguyên liệu thuốc và thuốc trong HPTR được khảo sát nhằm khảo sát xem tính chất thuốc có bị thay đổi khi được bào chế bằng HPTR hay không. Kết quả cho thấy tính chất của thuốc đã bị thay đổi từ tính khó tan (góc tiếp xúc lớn) sang tính dễ tan trong HPTR (góc tiếp xúc nhỏ).

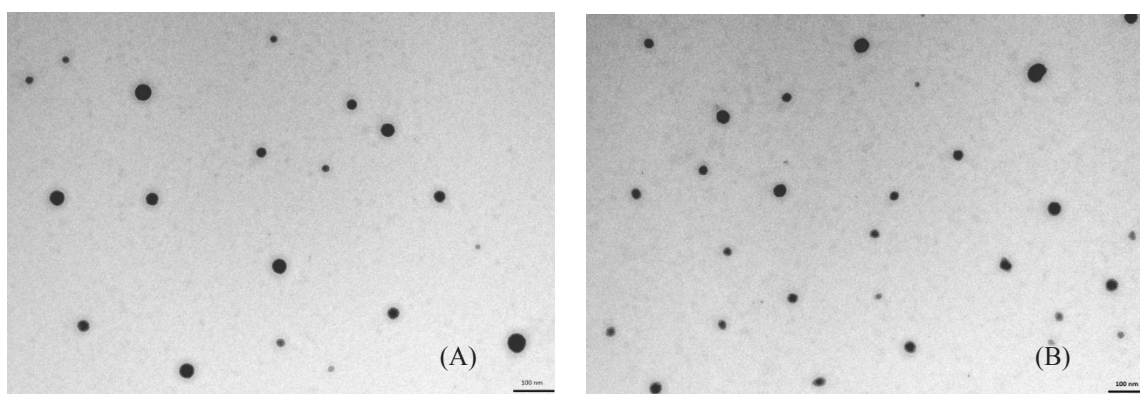


Hình 4. Góc tiếp xúc của LX (A) và LX trong HPTR (B)

3.4. Kích thước hạt của hệ phân tán rắn

Thuốc được phân tán trong môi trường pH 1,2 và pH 6,8 nhằm xác định cấu trúc nano của thuốc trong HPTR. Kết quả đo kích thước hạt cho thấy thuốc đã hoàn toàn phân tán trong môi trường thử dưới dạng nano với kích thước

trung bình lần lượt là 67,4 nm và 73,9 nm trong môi trường pH 1,2 và pH 6,8. Kết quả chụp ảnh TEM cũng cho thấy các hạt thuốc đã được phân tán dưới dạng nano khi phân tán vào môi trường thử (hình 5) và do đó làm tăng tính tan của thuốc.



Hình 6. Hình TEM của mẫu bột HPTR được phân tán trong pH 1,2 (A) và pH 6,8 (B)

4. KẾT LUẬN

Việc bào chế HPTR bằng phương pháp nóng chảy kết hợp với việc sử dụng chất nhũ hóa Brij® 98 trong nghiên cứu này cho thấy đây là phương pháp hiệu quả để tạo ra các hạt nano mang thuốc làm tăng tốc độ phóng thích hoạt chất. Ngoài ra, việc thay đổi cấu trúc tinh thể và làm tăng tính thấm ướt của thuốc cũng là cơ chế chính giúp cho hoạt chất được giải phóng nhanh hơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tran, P. H. L., Tran, T. T.-D., Lee, K. H., Kim, D. J., Lee, B. J.; 2010, dissolution-modulating mechanism of pH modifiers in solid dispersion containing weakly acidic or basic drugs with poor water solubility; Expert Opin. Drug Deliv.; 7; 647-661.
2. Heo, M.-Y., Piao, Z.-Z., Kim, T.-W., Cao, Q.-R., Kim, A., Lee, B.-J.; 2005, effect of solubilizing and microemulsifying excipients in polyethylene glycol 6000 solid dispersion on enhanced dissolution and bioavailability of ketoconazole; Arch.Pharm. Res.; 28; 604-611.
3. Tran, T.T.D., Tran, P.H.L., Lee, B.-J.; 2009, dissolution-modulating mechanism of alkalisers and polymers in a nanoemulsifying solid dispersion containing ionizable and poorly water-soluble drug; Eur. J. Pharm. Biopharm.; 72; 83-90.
4. Tran, T.T.-D., Tran, P.H.-L., Choi, H.-G., Han, H.-K., Lee, B.-J.; 2010, the roles of acidifiers in solid dispersions and physical mixtures; Int. J. Pharm.; 384; 60-66.
5. Tran, T.T.-D., Tran, P.H.L., Lim, J., Park, J.B., Choi, S.K., Lee, B.J.; 2010, physicochemical principles of controlled release solid dispersion containing a poorly water-soluble drug; Ther Deliv.; 1; 51-62.
6. Tran, T.T.-D., Ha, N.S., Tran, P.H.-L., Park, J.-B., Lee, B.-J.; 2011, dissolution-enhancing mechanism of alkalizers in poloxamer-based solid dispersions and physical mixtures containing poorly water-soluble valsartan; Chem. Pharm. Bull.; 59; 844-850.
7. Tran, P.H.L., Tran, T.T.D., Park, J.B., Lee, B.-J.; 2011, controlled release systems containing solid dispersions: strategies and mechanisms; Pharm. Res.; 28; 2353-2378.